

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 11-246420

(43)Date of publication of application : 14.09.1999

(51)Int.Cl.

A61K 35/14

A61K 38/00

A61K 38/17

A61K 38/22

A61K 45/08

(21)Application number : 10-045389

(71)Applicant : SEKISUI CHEM CO LTD

(22)Date of filing : 26.02.1998

(72)Inventor : NIIMURA KAZUO

(54) WOUND CURING ACCELERATOR

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a wound curing accelerator exhibiting higher wound curing effect in a wound position or an ulcer position.

SOLUTION: This wound curing accelerator is characterized by inserting or attaching a blood platelet into a matrix (e.g. collagen gel) and the blood platelet is characterized by a blood platelet of itself. Further, the wound curing accelerator contains cytokine, a cell growth factor (e.g. basic fibroblast growth factor) or a stimulating agent.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's
decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

* NOTICES *

Japan Patent Office is not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
2. **** shows the word which can not be translated.
3. In the drawings, any words are not translated.

DETAILED DESCRIPTION

[Detailed Description of the Invention]

[0001]

[The technical field to which invention belongs] this invention relates to a wound healing accelerator.

[0002]

[Description of the Prior Art] The method of expecting formation of proud flesh and reproduction of epidermis according to a patient's autotherapy force was main, having removed the sphacelus and suppressing bacterial proliferation with an antimicrobial agent in the treatment of skin ulcer or a decubitus ulcer, conventionally. That is, in many cases, antibiotic content ointment was used, and the method of waiting for formation of proud flesh and reproduction of epidermis has been taken according to the autotherapy force which the patient itself has, suppressing bacterial proliferation.

[0003] However, recent years come, the medicine and cure which promote proud flesh formation and the epidermization positively with progress of the fundamental research on wound healing come to be desired, and the matter which promotes proud flesh formation and epidermis reproduction has come to be applied to clinical. Recently, various cell growth factors etc. are developed as a wound treatment agent. For example, in the patients and elderly people of various disorders, such as diabetes, there is a problem that it is easy to generate ulcer and a decubitus ulcer, and they cannot heal up easily. Production of the various cell growth factors needed in the wound section especially in disorders, such as diabetes, is suppressed, and medication of the refined cell growth factor, a transgenic cell growth factor, etc. is considered as this treatment method. For example, the recombined-gene type basic fibroblast growth factor etc. is developed aiming at clinical application.

[0004] Moreover, in the platelet, it is known that various cell growth factors, such as a platelet origin growth factor (PDGF), an endothelial-cell-growth factor (VEGF), and an epidermal growth factor (EGF), are contained, and it is known that the platelet has an important role through these factors in wound healing process.

[0005] On the other hand, matrices, such as a collagen, a chitin, chitosan, and a fibrin, have the effect of healing promotion in the wound section, and are used as the wound coating or adhesives. For example, the collagen has played the role important as a substrate of a cell as a matrix outside a cell, and is used for the substrate of the various cells in in vitro one etc. In the burn etc., various wound coat material, such as a collagen film, is developed by the treatment of the shallow burn in which the epidermal cell remains. Moreover, in the case of the deep burn and the skin full loss blemish which the epidermal cell was lost completely, the private skin graft etc. was needed, and development of the artificial skin which carries out take as it is and forms the skin has been desired. The sake. As an artificial skin with structure equivalent to the living body skin The fibroblast and an epidermis basal cell The hybrid artificial skin cultivated on collagen gel is developed (E.). [Bell, P.Ehrlich, D.J.Buttie,] [T.Nakatsuji: Living Tissue Formed in vitro] and Accepted as Skin-Equivalent Tissue of Full Thickness. Science Vol.211.p -- 1052, 1981, I.V.Yannas, J.F.Burke, and D.P.Orgill -- E.M.Skrabut: Wound Tissue Can Utilize a Polymeric Template to Synthesize a Functional Extension of Skin. Science Vol.215.p -- 174 and 1982 Thus, since a skin cell can be easily extracted from a patient's own little piece of the skin and can also increase

cultivation to the required number of cells comparatively easily, it is used for the artificial skin.

[0006] As mentioned above, in the treatment of skin ulcer or a decubitus ulcer, the medicine and cure which promote proud flesh formation, the epidermization, and angioplasty positively with progress of the fundamental research on wound healing come to be desired, and the matter which promotes proud flesh formation, and epidermis reproduction and angioplasty has come to be applied to clinical.

Moreover, the hybrid artificial skin which cultivated the fibroblast and the epidermis basal cell on collagen gel as an artificial skin is used.

[0007] However, in a cytokine or a cell growth factor, since the complicated network is formed, carrying out high capacity medication of an independent cytokine and an independent cell growth factor at a living body brings about increase of a side effect. Moreover, although it is the production cell of main cytokines, even if they transplant these cells to a part, neither a leucocyte, nor a platelet, the marrow cell, etc. pile up in the target affected part, but are diffused and may cause reduction in an effect, and increase of a side effect. When medication of the collagen which is a matrix outside a cell has declined in the wound healing force of living bodies, such as elderly people, sufficient healing promotion operation is not demonstrated. In an artificial skin, after seepage of the leucocyte which is the initial process of wound healing, and proud flesh formation, although it is effective, an effect strong against healing promotion from the early stages of a wound is not demonstrated.

[0008] Thus, in wound treatment, a treatment agent which promotes wound healing more strongly is desired. As what has such a wound healing operation, the plasma which is rich in an activation platelet is mixed with the nature collagen carrier of a microcrystal, and the base material for cell cultures (JP,63-79588,A) which makes the constituent for wound treatment (***** No. 501628 [62 to] official report) which contains a carrier in the angioplasty factor of the platelet origin and a growth factor, and a row, and the base material containing a collagen come to support the cell growth factor of the platelet origin is proposed. however, these are supporting to the collagen the cell growth factor emitted from the platelet, and **** [in these cell growth factors / with manufacture process] from a carrier or a base material -- it may divide or deactivate

[0009]

[Problem(s) to be Solved by the Invention] this invention solves the above-mentioned trouble and the purpose is in offering a wound healing accelerator with a higher wound curative effect in a wound part or an ulcer part.

[0010]

[Means for Solving the Problem] In order to solve the above-mentioned technical problem, this invention person embeds a platelet at a matrix, for example, collagen gel, fibrin gel, etc., as a result of inquiring wholeheartedly, and it finds out that a strong wound healing facilitatory effect is demonstrated by transplanting to the wound section, and a platelet is embedded at a matrix, by transplanting still more nearly simultaneously with a cytokine, a cell growth factor, or a stimulant, it found out that a strong wound healing facilitatory effect was demonstrated, and this invention was completed.

[0011] That is, invention according to claim 1 is a wound healing accelerator characterized by a matrix embedding or adhering to a platelet. Invention according to claim 2 is a wound healing accelerator according to claim 1 characterized by a platelet being a self platelet.

[0012] Invention according to claim 3 is a wound healing accelerator according to claim 1 or 2 whose matrix is a biodegradability matrix. Invention according to claim 4 is a wound healing accelerator according to claim 3 characterized by a matrix being collagen gel or fibrin gel. Invention according to claim 5 is the wound healing accelerator of the claim 1-4 further characterized by containing a cytokine, a cell growth factor, or a stimulant given in any 1 term.

[0013] Hereafter, this invention is explained in detail. The wound healing accelerator of this invention is characterized by a matrix embedding or adhering to a platelet.

[0014] If a platelet cannot be made to embed or adhere and it does not have toxicity in dermatology as the above-mentioned matrix It is not limited especially. as a natural organic macromolecule A cellulose, a chitin, Protein, such as a collagen, gelatin, albumin, and a fibrin, is mentioned. Polysaccharide, such as chitosan, agarose, and calcium alginate; as a synthetic organic macromolecule A polymethyl

methacrylate, polystyrene, polyethylene, a polylactic acid, silicone resin, a polytetrafluoroethylene resin, etc. are mentioned.

[0015] Especially as a matrix, the thing of biodegradability is desirable, for example, a collagen, a chitin, chitosan, a fibrin, etc. are desirable. Since it is not necessary to remove or wash away after it is used for the wound healing accelerator of this invention by the wound part, contacting that a matrix is a matrix which has biodegradability and wound healing advances, it is useful by wound healing.

[0016] Moreover, like a collagen, a chitin, chitosan, and a fibrin, although itself has a wound healing facilitatory effect, especially since a healing facilitatory effect is multiplied by the wound healing facilitatory effect which a platelet has and a matrix is demonstrated, the case of a matrix is desirable.

[0017] Since have biodegradability; and itself has a wound healing facilitatory effect as a matrix, it is easy to receive and it is easy to use it, collagen gel or especially fibrin gel is desirable.

[0018] the Homo sapiens who is going to point out the platelet of Homo sapiens or an animal and is going to do especially as the above-mentioned platelet, self platelet, i.e., wound treatment, -- his thing is desirable It is because there is also no rejection of a host to the platelet after a transplant and healing of a wound is safely promoted, when it is a self platelet.

[0019] A platelet can be extracted and separated by the well-known method. For example, the method of separating using a centrifuge method, the centrifuge method in the inside of density-gradient liquid, gel filtration technique, etc. is mentioned from the blood which carried out sodium-citrate blood collecting. Moreover, it could be cultivated.

[0020] It sets to the wound healing accelerator of this invention, and the number of the platelets to which a matrix embeds or adheres can be freely fluctuated according to the required number of cells.

[0021] Although especially the method of obtaining the wound healing accelerator with which the matrix embedded or adhered to the platelet is not limited, the following methods are mentioned, for example. First, a platelet is separated from blood. This is mixed with the matrix of a solution state and mixture is made to gel. You may cultivate after mixture's gelling if needed.

[0022] It is used for it to the wound healing accelerator of this invention by the wound part, being contacted. When being inserted or covered with plaster, a tape, or a dressing by the wound part else [in the case of being contacted to a wound part], it may be contacted in the above-mentioned contact.

[0023] The wound healing accelerator of this invention according to claim 5 is a wound healing accelerator of the claim 1-4 further characterized by containing a cytokine, a cell growth factor, or a stimulant given in any 1 term.

[0024] A wound healing accelerator according to claim 5 can be obtained by being immersed in a matrix into the solution which contains a cytokine, a cell growth factor, or a stimulant for that which embedded or adhered to the platelet. As the above-mentioned cytokine, they are interferon gamma and a tumor necrosis factor, for example. - alpha, interleukin 1 alpha, interleukin 1 beta, etc. are mentioned. As the above-mentioned cell growth factor, an acid fibroblast growth factor, a basic fibroblast growth factor, an epidermal cell growth factor, an endothelial-cell-growth factor, etc. are mentioned, for example. As the above-mentioned stimulant, a thrombin, a platelet activating factor, etc. are mentioned, for example.

[0025] The operation of a wound healing accelerator according to claim 5 is the same as that of the above-mentioned wound healing accelerator according to claim 1.

[0026] Moreover, in the wound healing accelerator of this invention, you may transplant to the wound section, after activation-izing a platelet with a stimulant.

[0027] Especially the configuration of the wound healing accelerator of the claims 1-5 of this invention is not limited, but can obtain the thing of various kinds of configurations, such as a pellet type, a membrane type, and a microcapsule type, by fabrication possible [doubling with the configuration of a wound part].

[0028] In the wound healing accelerator of the claims 1-5 of this invention, the fibroblast and epidermal cell which are used by the conventional artificial skin with the platelet are intermingled, and a matrix may embed or adhere.

[0029]

[Function] Since healing promoters, such as various kinds of cell growth factors, are produced from a

platelet in a wound department place when the wound healing accelerator of this invention is contacted by the wound part, wound healing is promoted.

[0030] Moreover, since the matrix embeds or adheres to the platelet, the wound healing accelerator of this invention can pile up on a wound part well.

[0031] Moreover, also in the patients and elderly people of various disorders, such as diabetes, since the wound healing accelerator of this invention can assist seepage in the wound sections, such as a self leucocyte, and can activation-ize a leucocyte etc. artificially, it promotes wound healing.

[0032] Especially, since a wound healing accelerator according to claim 5 contains a cytokine, a cell growth factor, or a stimulant further in addition to a platelet, especially its facilitatory effect of wound healing is high.

[0033]

[Embodiments of the Invention] Below, the example of this invention is explained.

[0034] Heart blood collecting was carried out from the Wistar system rat of 17 weeks old of examples, using a sodium citrate as an anticoagulant, and the platelet was extracted by the centrifuge method from the blood. It is this platelet 1×10^7 It suspended in the acid fusibility I type collagen solution (the product made from quantity ** Co., tradename:CELLGEN) of the calf skin origin so that it might become an individual / concentration of ml (the collagen last concentration : 0.25 % of the weight). After carrying out mixed stirring under ice-cooling of this and pouring 100microl into a microplate (Iwaki Glass Co., Ltd. make) 96 hole, it warmed for 30 minutes at 37 degrees C, disc-like platelet embedding collagen gel was formed, and it considered as the wound healing accelerator. The following examinations were presented with this.

[0035] Disc-like platelet embedding collagen gel was produced like example 2 example 1. About this, it is Human. Recombinant BASIC It flooded with the calcium magnesium non-phosphorus-containing acid buffer solution which contains FGF (product made from genzyme) by ml in 1microg /for 2 hours, and considered as the wound healing accelerator. The following examinations were presented with this.

[0036] After stirring under ice-cooling of the acid fusibility I type collagen solution (the product made from quantity ** Co., tradename:CELLGEN) of the example of comparison 1 calf skin origin (collagen concentration : 0.25 % of the weight) and pouring 100microl into a microplate (Iwaki Glass Co., Ltd. make) 96 hole, it warmed for 30 minutes at 37 degrees C, disc-like collagen gel was produced, and the following examinations were presented with this.

[0037] Heart blood collecting was carried out from the Wistar system rat of 27 weeks old of examples of comparison, using a sodium citrate as an anticoagulant, and the platelet was extracted by the centrifuge method from the blood. It is this platelet 1×10^7 The calcium magnesium non-phosphorus-containing acid buffer solution was made to float so that it may become an individual / concentration of ml, and platelet suspension was produced. The following examinations were presented with 100micro of this platelet suspension 1.

[0038] Disc-like collagen gel was produced like the example 1 of example of comparison 3 comparison. About this, it is Human. Recombinant BASIC It flooded with the calcium magnesium non-phosphorus-containing acid buffer solution which contains FGF (product made from genzyme) by ml in 1microg /for 2 hours, and the following examinations were presented with this.

[0039] (Examination) It presented the following examinations with the wound healing accelerator of examples 1 and 2, and one sample of the examples 1-3 of comparison at a time separately, respectively.

[0040] The 7-weeks old Wister system male rat was purchased from the Japanese SLC company, and after carrying out preliminary breeding for one month, the experiment was presented with the with a weights [225-300g] rat by four per examination.

[0041] The rat regions-of-back skin which ****(ed) using hair clipper and the shaver was cut open along with the median line under anesthesia (about 3cm), and only collagen gel was inserted in the opposite side for the sample with which an examination is presented at one of hypodermically [right-and-left scapular-region] as control.

[0042] after insertion of a sample, and the incision section -- a metallicity suture instrument (the Natsume factory company make) -- it is -- etc. -- three places were sutured at the interval After sample

insertion, the granulation tissue formed on the 7th was taken out and the weight was measured. The rate of the granulation-tissue weight of the sample to the granulation-tissue weight of control was made into the rate of the proliferation granulation tissue (%), and the average of four animals with which the examination was presented was shown in Table 1.

[0043]

[Table 1]

		創傷治療促進剤	増殖内芽組織率 (%)
実施例	1	血小板含有コラーゲンゲル	151
	2	血小板・basic FGF含有コラーゲンゲル	184
比較例	1	コラーゲンゲルのみ	108
	2	血小板浮遊液	85
	3	basic FGF含有コラーゲンゲル	124

[0044] From Table 1, it was shown that the wound healing accelerator of this invention has the high wound healing effect compared with import of collagen gel, a platelet, a cell growth factor, etc., etc.

[0045]

[Effect of the Invention] The composition of a wound healing accelerator according to claim 1 is as above-mentioned, and according to this invention, in a wound part or an ulcer part, a wound healing accelerator with a higher wound curative effect is offered.

[0046] The wound healing accelerator which the composition of a wound healing accelerator according to claim 2 is as above-mentioned, and according to this invention there is no rejection of a host to the platelet after a transplant, and has a still higher wound curative effect in a wound part or an ulcer part is offered.

[0047] The composition of a wound healing accelerator according to claim 3 is as above-mentioned, and since according to this invention it is not necessary to remove or wash away after wound healing advances, since a matrix has biodegradability, in a wound part or an ulcer part, a wound healing accelerator with a still higher wound curative effect is offered.

[0048] Since have biodegradability and itself has a wound healing facilitatory effect, since it is as above-mentioned and a matrix is collagen gel or fibrin gel according to this invention, and the composition of a wound healing accelerator according to claim 4 is easy to come to hand and it is easy to use it, the wound healing accelerator which is easy to use a still higher wound curative effect, and is both easy to manufacture it is offered.

[0049] The composition of a wound healing accelerator according to claim 5 is as above-mentioned, and the wound healing accelerator which according to this invention has a high wound curative effect especially in a wound part or an ulcer part since the cytokine, the cell growth factor, or the stimulant contains further in addition to the platelet is offered.

[Translation done.]

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平11-246420

(43) 公開日 平成11年(1999) 9月14日

(51) Int.Cl. ⁸	識別記号	F I
A 6 1 K 35/14	A D T	A 6 1 K 35/14
38/00		45/08
38/17		37/02
38/22		37/12
45/08		37/24
審査請求 未請求 請求項の数5 O L (全 5 頁)		

(21) 出願番号 特願平10-45389

(22) 出願日 平成10年(1998) 2月26日

(71) 出願人 000002174

積水化学工業株式会社

大阪府大阪市北区西天満2丁目4番4号

(72) 発明者 新村 和夫

大阪府三島郡島本町百山2-1 積水化学
工業株式会社内

(54) 【発明の名称】 創傷治癒促進剤

(57) 【要約】

【課題】 創傷部位や潰瘍部位において、より高い創傷治療効果をもつ創傷治癒促進剤を提供する。

【解決手段】 マトリックス (例、コラーゲンゲル) に血小板が埋入又は付着されたことを特徴とする創傷治癒促進剤。血小板が自己の血小板であることを特徴とする上記の創傷治癒促進剤。及び、更に、サイトカイン、細胞増殖因子 (例、塩基性線維芽細胞増殖因子) 又は刺激剤を含有することを特徴とする上記の創傷治癒促進剤。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 マトリックスに血小板が埋入又は付着されたことを特徴とする創傷治癒促進剤。

【請求項2】 血小板が自己の血小板であることを特徴とする請求項1記載の創傷治癒促進剤。

【請求項3】 マトリックスが生分解性マトリックスである請求項1又は2記載の創傷治癒促進剤。

【請求項4】 マトリックスがコラーゲンゲル又はフィブリンゲルであることを特徴とする請求項3記載の創傷治癒促進剤。

【請求項5】 更に、サイトカイン、細胞増殖因子又は刺激剤を含有することを特徴とする請求項1～4のいずれか1項記載の創傷治癒促進剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は創傷治癒促進剤に関する。

【0002】

【従来の技術】従来より、皮膚潰瘍や褥創の治療においては、壊死組織を除去し、抗菌剤により細菌の増殖を抑制しつつ患者の自然治癒力により、肉芽の形成、表皮の再生を期待する方法が主であった。すなわち、抗生物質含有軟膏を多くの場合使用し、細菌などの増殖を抑制しつつ患者自身の持つ自然治癒力により、肉芽の形成、表皮の再生を待つ方法を取ってきた。

【0003】しかしながら、近年になって、創傷治癒に関する基礎的研究の進歩と共に、肉芽形成や表皮形成を積極的に促進する薬剤や治療法が望まれるようになり、肉芽形成や表皮再生を促進する物質が臨床に応用されるようになってきた。最近では、種々の細胞増殖因子などが創傷治療剤として開発されている。例えば、糖尿病などの各種疾患の患者や高齢者においては、潰瘍や褥創が発生し易く治り難いという問題がある。特に糖尿病などの疾患においては創傷部において必要とされる各種細胞増殖因子の産生が抑えられており、この治療方法として、精製された細胞増殖因子や遺伝子組み換えの細胞増殖因子などの投与が考えられている。例えば、遺伝子組み換え型の塩基性線維芽細胞増殖因子などが臨床応用を目指して開発されている。

【0004】また、血小板中には、血小板由来成長因子(PDGF)、血管内皮細胞増殖因子(VEGF)、上皮成長因子(EGF)など種々の細胞増殖因子が含まれていることが知られており、血小板は創傷治癒過程において、これらの因子を介して重要な役割をもっていることが知られてきている。

【0005】一方、コラーゲン、キチン、キトサン、フィブリンなどのマトリックスは創傷部において治癒促進の効果を持ち、創傷被膜剤や接着剤として用いられている。例えば、コラーゲンは細胞外マトリックスとして細胞の基質として重要な役割を果たしており、インビトロに

おける各種細胞の基質などに用いられている。熱傷などにおいて、表皮細胞が残っている浅い熱傷の治療にはコラーゲン膜などの各種創傷被膜材が開発されている。また、表皮細胞が完全に失われた深い熱傷や皮膚完全損失傷の場合には自家植皮などが必要となり、そのまま生着して皮膚を形成する人工皮膚の開発が望まれてきた。そのため、生体皮膚と同等な構造をもつ人工皮膚として、線維芽細胞や表皮基底細胞をコラーゲンゲル上に培養したハイブリッド人工皮膚が開発されている(E. Bell, P. Ehrlich, D. J. Buttle, T. Nakatsuji: Living Tissue Formed in vitro and Accepted as Skin-Equivalent Tissue of Full Thickness. Science Vol. 211. p1052, 1981, I. V. Yannas, J. F. Burke, D. P. Orgill, E. M. Skrabut: Wound Tissue Can Utilize a Polymeric Template to Synthesize a Functional Extension of Skin. Science Vol. 215. p174, 1982)。このように皮膚細胞は、患者自身の少量の皮膚片から容易に採取でき、培養も比較的容易で、かつ必要な細胞数まで増殖することができるために、人工皮膚に用いられている。

【0006】上述のように、皮膚潰瘍や褥創の治療においては、創傷治癒に関する基礎的研究の進歩と共に、肉芽形成や表皮形成、血管形成を積極的に促進する薬剤や治療法が望まれるようになり、肉芽形成や表皮再生、血管形成を促進する物質が臨床に応用されるようになってきた。また、人工皮膚として線維芽細胞や表皮基底細胞をコラーゲンゲル上に培養したハイブリッド人工皮膚なども用いられている。

【0007】しかしながら、サイトカインや細胞増殖因子においては、複雑なネットワークを形成しているため、単独のサイトカインや細胞増殖因子を生体に高容量投与することは副作用の増大をもたらす。また、白血球や血小板、骨髄細胞などは主要なサイトカインの産生細胞であるが、これらの細胞を局所に移植しても、目的とする患部に滞留せず、拡散し、効果の減少と副作用の増大を引き起こす可能性がある。細胞外マトリックスであるコラーゲン等の投与は、高齢者等の生体の創傷治癒力が衰えている場合には十分な治癒促進作用が発揮されない。人工皮膚においても、創傷治癒の初期過程である白血球の浸潤、肉芽形成の後では有効であるが、創傷初期からの治癒促進には強い効果が発揮されない。

【0008】このように、創傷治療においては、創傷治癒をより強く促進する治療剤が望まれている。このような創傷治癒作用を有するものとして、活性化血小板に富む血漿を微結晶質コラーゲンキャリアーと混合して、血

血小板由来の血管形成因子および成長因子、ならびにキャリアーを含有する創傷治療用組成物(特表昭62-501628号公報)や、コラーゲンを含む基材に血小板由来の細胞増殖因子を担持させてなる細胞培養用基材(特開昭63-79588号公報)が提案されている。しかしながら、これらは血小板から放出された細胞増殖因子をコラーゲンに担持しており、キャリアーや基材からこれらの細胞増殖因子が調製過程で失なわれたり、失活したりする可能性がある。

【0009】

【発明が解決しようとする課題】本発明は上記問題点を解決するものであり、その目的は、創傷部位や潰瘍部位において、より高い創傷治療効果をもつ創傷治癒促進剤を提供することにある。

【0010】

【課題を解決するための手段】上記課題を解決するために、本発明者は鋭意研究した結果、血小板をマトリックス、例えば、コラーゲングル、フィブリンゲルなどに埋入し、創傷部に移植することにより強い創傷治癒促進効果が発揮されることを見出し、また、血小板をマトリックスに埋入し、更にサイトカイン、細胞増殖因子又は刺激剤と同時に移植することにより強い創傷治癒促進効果が発揮されることを見出し、本発明を完成させた。

【0011】すなわち、請求項1記載の発明は、マトリックスに血小板が埋入又は付着されたことを特徴とする創傷治癒促進剤である。請求項2記載の発明は、血小板が自己の血小板であることを特徴とする請求項1記載の創傷治癒促進剤である。

【0012】請求項3記載の発明は、マトリックスが生分解性マトリックスである請求項1又は2記載の創傷治癒促進剤である。請求項4記載の発明は、マトリックスがコラーゲングル又はフィブリンゲルであることを特徴とする請求項3記載の創傷治癒促進剤である。請求項5記載の発明は、更に、サイトカイン、細胞増殖因子又は刺激剤を含有することを特徴とする請求項1～4のいずれか1項記載の創傷治癒促進剤である。

【0013】以下、本発明を詳細に説明する。本発明の創傷治癒促進剤は、マトリックスに血小板が埋入又は付着されたことを特徴とする。

【0014】上記マトリックスとしては、血小板を埋入又は付着させることができるものであって、皮膚科学的に毒性を有するものでなければ、特に限定されず、例えば、天然有機高分子として、セルロース、キチン、キトサン、アガロース、アルギン酸カルシウムなどの多糖類;コラーゲン、ゼラチン、アルブミン、フィブリンなどの蛋白質が挙げられ、また、合成有機高分子として、ポリメタクリル酸メチル、ポリスチレン、ポリエチレン、ポリ乳酸、シリコーン樹脂、ポリテトラフロロエチレン樹脂などが挙げられる。

【0015】マトリックスとしては、特に、生分解性の

ものが好ましく、例えば、コラーゲン、キチン、キトサン、フィブリンなどが好ましい。マトリックスが生分解性を有するマトリックスであると、本発明の創傷治癒促進剤が創傷部位に接触されて使用され、創傷治癒が進行した後に、剥がしたり洗い流したりする必要がないので創傷治癒により有用である。

【0016】また、マトリックスが、例えば、コラーゲン、キチン、キトサン、フィブリンなどのように、それ自身が創傷治癒促進効果をもつもの場合は、治癒促進効果が血小板のもつ創傷治癒促進効果に相乗されて発揮されるので特に好ましい。

【0017】マトリックスとしては、生分解性を有し、それ自身が創傷治癒促進効果をもち、かつ入手し易く、また使用し易いのでコラーゲングル又はフィブリンゲルが特に好ましい。

【0018】上記血小板としては、ヒトや動物の血小板を指し、特に自己の血小板、すなわち、創傷治療をしようとするヒト本人のものが好ましい。自己の血小板である場合には、移植後の血小板に対する宿主の拒絶反応もなく、安全に創傷の治癒が促進されるからである。

【0019】血小板は公知の方法で採取、分離することができる。例えば、クエン酸ナトリウム採血した血液から、遠心分離法、密度勾配液中での遠心分離法、ゲル濾過法などを用いて分離する方法が挙げられる。また、培養されたものでもよい。

【0020】本発明の創傷治癒促進剤において、マトリックスに埋入又は付着される血小板の数は、必要な細胞数に応じて自由に増減されることができる。

【0021】マトリックスに血小板が埋入又は付着された創傷治癒促進剤を得る方法は、特に限定されないが、例えば、以下の方法が挙げられる。まず、血液から、血小板を分離する。これを、溶液状態のマトリックスと混合し、混合物をゲル化させる。混合物がゲル化後、必要に応じて培養してもよい。

【0022】本発明の創傷治癒促進剤は、創傷部位に接触されて使用される。上記接触とは、絆創膏、テープ又は包帯などによって創傷部位に接触させられる場合の他に、創傷部位に挿入又は被覆されることによって接触させられてもよい。

【0023】本発明の請求項5記載の創傷治癒促進剤は、更に、サイトカイン、細胞増殖因子又は刺激剤を含有することを特徴とする請求項1～4のいずれか1項記載の創傷治癒促進剤である。

【0024】請求項5記載の創傷治癒促進剤は、例えば、マトリックスに血小板が埋入又は付着されたものを、サイトカイン、細胞増殖因子又は刺激剤を含有する溶液中に浸漬することによって得ることができる。上記サイトカインとしては、例えば、インターフェロナー、腫瘍壊死因子- α 、インターロイキン-1 α 、インターロイキン-1 β などが挙げられる。上記細胞増殖因

子としては、例えば、酸性線維芽細胞増殖因子、塩基性線維芽細胞増殖因子、表皮細胞増殖因子、血管内皮細胞増殖因子などが挙げられる。上記刺激剤としては、例えば、トロンビン、血小板活性化因子などが挙げられる。

【0025】請求項5記載の創傷治癒促進剤の使用方法は、上記の請求項1記載の創傷治癒促進剤と同様である。

【0026】また、本発明の創傷治癒促進剤において、血小板を刺激剤で賦活化した後、創傷部に移植してもよい。

【0027】本発明の請求項1～5の創傷治癒促進剤の形状は、特に限定されず、創傷部位の形状に合わせることが可能であり、例えば、ペレット型、膜型、マイクロカプセル型などの各種の形状のものを成形により得ることができる。

【0028】本発明の請求項1～5の創傷治癒促進剤において、血小板と共に、従来の人工皮膚で用いられている線維芽細胞や表皮細胞が混在されて、マトリックスに埋入又は付着されてもよい。

【0029】

【作用】本発明の創傷治癒促進剤は、創傷部位に接触されることにより、創傷部局所において血小板から各種の細胞増殖因子などの治癒促進因子が産生されるので、創傷治癒が促進される。

【0030】また、本発明の創傷治癒促進剤は、血小板がマトリックスに埋入又は付着されているので、創傷局所に良く滞留することができる。

【0031】また、本発明の創傷治癒促進剤は、糖尿病等の各種疾患の患者や高齢者においても、自己の白血球などの創傷部への浸潤を補助し、人工的に白血球などを賦活化することができるので、この様な場合にも創傷治癒を促進する。

【0032】特に、請求項5記載の創傷治癒促進剤は、血小板に加えて、更に、サイトカイン、細胞増殖因子又は刺激剤を含有するので、特に創傷治癒の促進効果が高い。

【0033】

【発明の実施の形態】以下に、本発明の実施例を説明する。

【0034】実施例1

7週齢のウイスター系ラットからクエン酸ナトリウムを抗凝固剤として用いて心臓採血し、その血液から遠心分離法により血小板を採取した。この血小板を 1×10^7 個/mlの濃度となるように、仔牛皮膚由来の酸可溶性I型コラーゲン溶液（高研社製、商品名：CELLGEN）に懸濁した（コラーゲン最終濃度：0.25重量%）。これを氷冷下に混合攪拌し、96孔マイクロプレート（岩城硝子社製）に100 μ lを注入した後、37℃で30分間加温して円板状の血小板埋入コラーゲンゲルを形成し創傷治癒促進剤とした。これを以下の試験に

供した。

【0035】実施例2

実施例1と同様にして、円板状の血小板埋入コラーゲンゲルを作製した。これを、Human Recombinant basic FGF（genzyme社製）を1 μ g/mlで含有するカルシウム・マグネシウム不含リン酸緩衝液に2時間浸漬し創傷治癒促進剤とした。これを以下の試験に供した。

【0036】比較例1

10 仔牛皮膚由来の酸可溶性I型コラーゲン溶液（高研社製、商品名：CELLGEN）を氷冷下に攪拌し（コラーゲン濃度：0.25重量%）、96孔マイクロプレート（岩城硝子社製）に100 μ lを注入した後、37℃で30分間加温して円板状のコラーゲンゲルを作製し、これを以下の試験に供した。

【0037】比較例2

7週齢のウイスター系ラットからクエン酸ナトリウムを抗凝固剤として用いて心臓採血し、その血液から遠心分離法により血小板を採取した。この血小板を 1×10^7 個/mlの濃度となるようにカルシウム・マグネシウム不含リン酸緩衝液に浮遊させ、血小板浮遊液を作製した。この血小板浮遊液100 μ lを以下の試験に供した。

【0038】比較例3

比較例1と同様にして円板状のコラーゲンゲルを作製した。これを、Human Recombinant basic FGF（genzyme社製）を1 μ g/mlで含有するカルシウム・マグネシウム不含リン酸緩衝液に2時間浸漬し、これを以下の試験に供した。

30 【0039】（試験）実施例1、2の創傷治癒促進剤と、比較例1～3の試料とを、それぞれ1例ずつ別々に以下の試験に供した。

【0040】7週齢のWister系雄性ラットを日本SLC社から購入し、1ヶ月間予備飼育した後、体重225～300gのラットを一試験当たり4匹で実験に供した。

40 【0041】バリカンとシェーバーを用いて刈毛したラット背部皮膚をエーテル麻酔下で正中線に沿って切開（3cm程度）し、左右肩甲部皮下のどちらか一方に試験に供する試料を、その反対側にコントロールとして、コラーゲンゲルのみを挿入した。

【0042】試料の挿入後、切開部を金属性縫合器（夏目製作所社製）で等間隔に3ヶ所縫合した。試料挿入後、7日目に形成された肉芽組織を取り出し重量を測定した。コントロールの肉芽組織重量に対する試料の肉芽組織重量の割合を増殖肉芽組織率（%）とし、試験に供した4匹の平均値を表1に示した。

【0043】

【表1】

		創傷治療促進剤	増殖内芽組織率 (%)
実施例	1	血小板含有コラーゲンゲル	151
	2	血小板・basic FGF含有コラーゲンゲル	184
比較例	1	コラーゲンゲルのみ	108
	2	血小板浮遊液	85
	3	basic FGF含有コラーゲンゲル	124

【0044】表1より、本発明の創傷治療促進剤は、コラーゲンゲルや血小板、細胞増殖因子などの移入に比べて高い創傷治療効果を有することが示された。

【0045】

【発明の効果】請求項1記載の創傷治療促進剤の構成は、上記の通りであり、本発明によれば、創傷部位や潰瘍部位において、より高い創傷治療効果をもつ創傷治療促進剤が提供される。

【0046】請求項2記載の創傷治療促進剤の構成は、上記の通りであり、本発明によれば、移植後の血小板に 20 対する宿主の拒絶反応がなく、創傷部位や潰瘍部位において、より一層高い創傷治療効果をもつ創傷治療促進剤が提供される。

【0047】請求項3記載の創傷治療促進剤の構成は、上記の通りであり、本発明によれば、マトリックスが生分解性を有するので、創傷治療が進行した後に、剥がし*

*たり洗い流したりする必要がないので、創傷部位や潰瘍部位において、より一層高い創傷治療効果をもつ創傷治療促進剤が提供される。

【0048】請求項4記載の創傷治療促進剤の構成は、上記の通りであり、本発明によれば、マトリックスがコラーゲンゲル又はフィブリンゲルであるので、生分解性を有し、それ自身が創傷治療促進効果をもち、かつ入手し易く、また使用し易いので、より一層高い創傷治療効果をもつと共に、使い易く、且つ製造し易い、創傷治療促進剤が提供される。

【0049】請求項5記載の創傷治療促進剤の構成は、上記の通りであり、本発明によれば、血小板に加えて、更に、サイトカイン、細胞増殖因子又は刺激剤が含有されているので、創傷部位や潰瘍部位において、特に高い創傷治療効果をもつ創傷治療促進剤が提供される。